

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 314

Travail des Laboratoires de Chimie Organique
et de Médecine Expérimentale
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon

Contribution à l'étude
du sucre virtuel ou protéidique sanguin
dans le cancer

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION DE PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

le 28 Novembre 1941

PAR

Madeleine VANSTEENBERGHE

Diplômée de Bactériologie

Certifiée d'Hygiène

*Ex-Assistante du Laboratoire de Chimie Biologique
de l'Institut Bactériologique*

Née le 19 Mars 1917, à LYON (Rhône)



LYON

BOSC Frères M. & L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

42, Quai Gailleton, 42

1941

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU SUCRE VIRTUEL OU PROTEIDIQUE SANGUIN
DANS LE CANCER**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 314

Travail des Laboratoires de Chimie Organique
et de Médecine Expérimentale
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon

**Contribution à l'étude
du sucre virtuel ou protéidique sanguin
dans le cancer**

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION DE PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

le 28 Novembre 1941

PAR

Madeleine VANSTEENBERGHE

Diplômée de Bactériologie

Certifiée d'Hygiène

*Ex-Assistante du Laboratoire de Chimie Biologique
de l'Institut Bactériologique*

Née le 19 Mars 1917, à LYON (Rhône)



LYON

BOËC Frères M. & L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

42, Quai Gailleton, 42

1941

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire	M. L. HUGOUNENQ.
Doyen	M. J. LEPINE.
Assesseur	M. A. MOREL.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. LANNOIS, HUGOUNENQ, PIC, CONDAMIN, PAVIOT,
NICOLAS, VILLARD, NOVE-JOSSERAND, TIXIER, COLLET, GAYET, CLUZET,
BERARD, COURMONT, GUIART, PIÉRY, VORON, CADE, THÉVENOT Léon.

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. FROMENT.
Cliniques chirurgicales	SAVY.
Clinique obstétricale et Accouchements	PATEL.
Clinique ophtalmologique	X...
Clinique dermatologique et syphiligraphique	X...
Clinique neurologique et psychiatrique	BONNET.
Clinique médicale infantile	FAVRE.
Clinique gynécologique	LEPINE J.
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	MOURIQUAND.
Clinique urologique	COTTE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	REBATTU.
Clinique et prophylaxie de la tuberculose	CIBERT.
Clinique des maladies infectieuses	TAVERNIER.
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie	DUFOUT.
Chimie biologique et médicale	CHALIER J.
Chimie organique et Toxicologie	PONTHUS.
Matière médicale et Botanique	FLORENCE.
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	MOREL.
Anatomie	MANCEAU.
Histologie	GARIN.
Physiologie	LATARJET.
Pathologie interne	POLICARD.
Pathologie générale et thérapeutique	HERMANN.
Anatomie pathologique	CORDIER.
Chirurgie opératoire	X...
Médecine expérimentale et comparée et Bactériologie	MARTIN J.-F.
Médecine légale	SANTY.
Hygiène	ARLOING (F.).
Pharmacie et Pharmacologie	MAZEL.
Hydrologie thérapeutique et Climatologie	ROCHAIX.
	LEULIER.
	GATE.

PROFESSEUR TITULAIRE SANS CHAIRE

Chargé d'un cours d'Embryologie	M. NOEL.
---------------------------------------	----------

AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
GABRIELLE	P. RAVAULT	CLAVEL	FROMENT (R.).
CHAMBON	PIGEAUD	LEVRAT	MARTIN (P.-E.).
REVOL	CROIZAT	RANSSILLON	MOUNIER-KUHN
ENSELME	DELORE	MALLET-GUY	BROUSSY
SEDALLIAN	JOSSERAND	ROMAN	PIFFAULT
CREYSSEL	MORIN	PEYCELON	
DE ROUGEMONT	BFRTRAND	JOURDAN	

EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. MOREL, *président* ; ARLOING, *assesseurs*
MANCEAU et JOSSERAND.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation

A MES PARENTS

Faible témoignage de ma bien
vive affection et de ma profonde
gratitude.

A MON FRERE ET A MA BELLE-SŒUR

LES DOCTEURS ANDRÉ ET ALICE VANSTEENBERGHE

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS

A MON PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. MOREL

Professeur de Chimie Organique et de Toxicologie

Correspondant de l'Académie de Médecine

Officier de la Légion d'Honneur

A MES JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR F. ARLOING

*Professeur de Médecine Expérimentale et de Bactériologie
Chevalier de la Légion d'Honneur*

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. MANCEAU

*Professeur de Matière Médicale
Pharmacien-Général-Inspecteur
Officier de la Légion d'Honneur*

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ A. JOSSERAND

Médecin des Hôpitaux

**A MES MAITRES DE LA FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE DE LYON**

A MES CAMARADES DE LABORATOIRE

A MES AMIS

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU SUCRE VIRTUEL OU PROTEIDIQUE SANGUIN DANS LE CANCER

AVANT-PROPOS

Ce travail nous a été inspiré par M. le Professeur MOREL à la suite des études entreprises par lui, en collaboration avec MM. les Professeurs ARLOING et JOSSERAND, en vue de rechercher si la méthode de traitement chimique des cancers dont ils sont les auteurs et qui est active vis-à-vis de certains éléments des processus néoplasiques, l'était également vis-à-vis du taux du sucre virtuel ou protéidique du sang.

Il a été effectué sous la direction et dans le laboratoire de Chimie Organique de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de M. le Professeur MOREL. Ce Maître a été, au cours des quatre années qu'il nous a permis de travailler à ses côtés, tant à son laboratoire de la Faculté qu'à celui de l'Institut Bactériologique, un guide bienveillant et compréhensif. Il a mis largement à notre disposition le matériel nécessaire à nos travaux, auxquels il n'a jamais cessé de porter le plus vif intérêt en nous aidant de ses conseils éclairés. Nous sommes très sensible, de plus, à l'honneur qu'il veut bien nous faire en présidant

cette thèse. Nous le remercions très respectueusement en le priant d'agréer l'assurance de toute notre gratitude.

M. le Professeur ARLOING n'a cessé de nous prodiguer les marques de la plus cordiale bienveillance. En acceptant de faire partie du jury de notre thèse, il nous donne une fois de plus une preuve de sa sympathie. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre reconnaissance et de notre sincère attachement.

M. le Professeur MANCEAU qui, au cours de nos études, a toujours fait preuve de la plus grande bienveillance à notre égard, a bien voulu nous accueillir au Laboratoire Régional de Chimie de la XIV^e Division Militaire. Il nous a fait le très grand honneur d'accepter de faire partie de notre jury de thèse ; nous lui adressons nos remerciements respectueux et nous le prions de croire à toute notre reconnaissance.

M. le Professeur JOSSERAND nous a permis de mener à bien ce travail en mettant à notre disposition, avec les éléments nécessaires à nos recherches, ses profondes connaissances médicales et en ne nous ménageant ni son aide, ni ses conseils. Nous sommes heureuse de lui présenter ici l'expression de notre bien vive reconnaissance.

M. le Professeur CHAMBON qui, en nous accueillant dans son laboratoire de l'Hôpital Edouard-Herriot, nous a permis de nous perfectionner dans la pratique des analyses biologiques, nous a, à plusieurs reprises

donné des preuves de sa sympathie. Qu'il veuille bien accepter ici nos respectueux remerciements.

Nous remercions également M. le Pharmacien Capitaine DREVON, Directeur du Laboratoire Régional de Chimie, dont la bienveillance a facilité notre travail et nous a permis de le terminer. Nous l'assurons respectueusement de toute notre gratitude.

M. A. BADINAND, Chef des Travaux Pratiques de Chimie Organique et de Toxicologie, Pharmacien des Hôpitaux, dont nous avons été la collaboratrice à la Faculté, a été pour nous un Maître et un ami. Nous le prions d'agréer nos bien sincères remerciements pour l'intérêt qu'il nous a toujours témoigné.

Nos remerciements iront aussi à M. L. PERROT, Pharmacien des Hôpitaux, qui nous a aidée de ses conseils et auprès de qui nous avons toujours trouvé un accueil des plus sympathiques.

Nous sommes heureuse d'adresser l'expression de nos sentiments de gratitude à M. CALLET, notre maître de stage, qui aida nos débuts dans la vie pharmaceutique de ses conseils et de son expérience.

Enfin nous tenons à remercier le sympathique DEVILLE, qui nous a facilité notre tâche et qui nous fut toujours si dévoué.

PLAN DU TRAVAIL

CHAPITRE I

Position du problème par les travaux de l'Institut
Prophylactique.

CHAPITRE II

Découverte du sucre virtuel par R. Lépine.
Travaux modernes sur sa constitution (Bierry,
Bigwood, Dumazert, Mme Grusewska, etc.).

CHAPITRE III

Technique de la détermination photométrique.

CHAPITRE IV

Travaux personnels.
Détails des résultats — Observations résumées.
Résumé.

CONCLUSIONS

CHAPITRE PREMIER

POSITION DU PROBLEME

Après avoir, à l'Institut Prophylactique qu'il dirige, apporté une importante contribution aux travaux qui ont montré le parti que l'on peut tirer de l'emploi des méthodes sérologiques dans l'étude et le traitement de la syphilis et de la tuberculose, A. Vernes poursuit des recherches analogues sur le cancer, dans l'intention de découvrir un procédé commode et général de diagnostic de cette affection. Ces recherches lui parurent justifiées, car tous les efforts thérapeutiques apportés au traitement du cancer se ramènent à l'intérêt capital d'une intervention chirurgicale ou à un traitement par les agents physiques, aussi précoces que possible, d'où l'utilité évidente d'une technique sérologique qui conduirait à un diagnostic précoce.

Le point de départ de ces recherches fut la constatation par lui du phénomène général suivant : si l'on distribue dans une série de tubes du sérum humain normal, puis un réactif susceptible de provoquer un trouble dans le mélange — l'un des deux à dose fixe, l'autre à doses régulièrement croissantes — ce trouble n'augmente pas d'une manière continue avec la

dose, mais il présente des alternatives d'accroissement et de diminution que l'on suit sur une courbe.

Lorsque, dans les mêmes conditions d'expérience, on substitue au sérum normal un sérum pathologique, l'emploi d'un réactif approprié détermine une déformation de la courbe : c'est ce qui a été observé avec le péréthynol sur le sérum de syphilitique et avec la résorcine pour le sérum de tuberculeux. Le problème consistait, pour le cancer comme pour la syphilis et la tuberculose, à rechercher le réactif qui pouvait amener le maximum d'écart entre l'ondulation des courbes correspondant respectivement au sérum pathologique et au sérum normal. Après des investigations qui ont porté sur un très grand nombre de substances [1], A. Vernes choisit une solution d'acétate de cuivre.

Les recherches se poursuivirent par la détermination des conditions techniques permettant d'obtenir le maximum de trouble pour les sujets cancéreux et le minimum pour les non cancéreux, ce trouble étant mesuré comme dans les précédentes méthodes sérologiques au moyen d'un photomètre construit par A. Vernes, Bricq et Yvon.

C'est ainsi que A. Vernes découvrit [2] que la réaction de floculation par l'acétate de cuivre était beaucoup plus fidèle si on substituait au sérum frais les albumines de ce sérum, précipitées et purifiées selon la méthode indiquée par Piettre [3] et [4], qui les débarrasse de la plus grande partie des sels, des substances grasses et des produits tels que le cholestérol.

térol, les phosphatides et le glucose qui les accompagnent dans le sérum sanguin.

Cette réaction de floculation, ainsi mise au point, permit à A. Vernes de constater le fait général suivant : le trouble produit par l'acétate de cuivre dans la solution des albumines du sérum préparées selon la méthode de Piettre et amenées sous la forme d'une pastille, est beaucoup plus intense chez les cancéreux que chez les normaux et, d'autre part, il diminue d'intensité lorsque le cancer est traité avec succès.

Par ailleurs, des travaux tout différents amenèrent A. Vernes à doser dans le sang des glucides qui existent dans le sérum à côté du sucre libre et qui échappent aux réactifs habituels des oses parce qu'ils sont liés aux protéides du sérum. Pour effectuer ce dosage, il faut briser les attaches qui les lient aux protéides plasmatiques par action d'un acide dilué, comme l'avait fait Raphaël Lépine, qui avait donné à ces glucides le nom de « sucre virtuel du sang ».

Nous verrons plus loin que ces glucides peuvent se distinguer en deux groupes, l'un fermentescible et l'autre non. Pour un sujet normal, le taux de ces glucides réducteurs, dont l'ensemble est dit sucre protéidique, ne dépasse pas 1 gr. 50 par litre de sérum frais. Si, au lieu d'utiliser le sérum frais, on utilise son albumine préparée selon la méthode de Piettre, que l'on redissout ensuite dans une quantité d'eau salée égale à celle du sérum de départ, on obtient un chiffre plus élevé, 1 gr. 70 en moyenne. Or, le sérum des cancéreux contient un excès de ce sucre protéidique.

D'autre part, A. Vernes découvrit [5] le parallélisme absolu qui existe entre la lecture photométrique traduisant l'intensité de la réaction de floculation par l'acétate de cuivre et le taux de ce sucre protéidique.

Dans le sérum sanguin frais, la floculation est fonction du taux de la partie non fermentescible du sucre protéidique. Pour la pastille d'albumine purifiée, redissoute dans l'eau salée, la floculation est fonction, non plus seulement de la partie fermentescible, mais du sucre protéidique total.

Quand il y a un excès de ce produit (cancéreux), l'intensité du trouble correspond au photomètre à un degré supérieur à 100° (chiffre maximum pour les non cancéreux). Contrairement à ce qui se passe pour le sucre protéidique, le sucre libre du sang n'intervient pas dans le phénomène de floculation par l'acétate de cuivre, du moins quand ce sucre libre est constitué par du glucose normal.

A. Vernes avait ainsi atteint le but cherché : évaluer d'une manière rapide et précise le taux dans le sang d'une substance qui est différent suivant qu'un sujet est cancéreux ou non et qui tend à se rapprocher de la normale lorsqu'une thérapeutique a agi avec succès, tandis qu'il reste anormal en cas d'échec du traitement ou d'une récurrence.

Nous allons voir maintenant comment fut découvert ce sucre virtuel ou protéidique et comment sa constitution fut peu à peu élucidée, en empruntant pour cet historique des documents à un article publié par A. Vernes dans les Archives de l'Institut Prophylactique de 1938.

CHAPITRE II

ETUDE DU SUCRE VIRTUEL

A. — Découverte du sucre virtuel ou protéidique du sang

Comme le dit A. Vernes dans l'article cité [6], il semble que ce soit Lehmann [7] qui, le premier, eut la notion du « sucre combiné » du sang ; d'après lui, le sang contient une sorte de « combinaison copulée du sucre » dont le traitement par l'acide nitrique sépare par dédoublement un sucre fermentescible. Il tire cette conclusion d'une expérience faite par Figuier [8] sur du sang de chien défibriné et traité par deux fois et demi son volume d'alcool à 30°. Séparée du coagulum et acidifiée, la liqueur est évaporée à siccité au bain-marie. Le résidu, bien sec, est repris par l'eau et passé à travers un linge. La liqueur obtenue est divisée en deux parties. La première, mise directement et sans traitement particulier en contact avec la levure de bière, ne donne aucun signe de fermentation. La deuxième, additionnée de quelques gouttes d'acide nitrique et maintenue à l'ébullition pendant deux ou trois minutes, de trouble

qu'elle était, s'éclaircit et prend une belle teinte jaune. Neutralisée exactement avec un peu de carbonate de soude et mise en présence de levure de bière, elle donne après un quart d'heure des signes de fermentation qui se prolongent plusieurs heures.

Mais c'est surtout Raphaël Lépine qui, au cours de ses importants travaux sur la glycolyse dans le sang, lesquels l'avaient conduit à formuler pour la première fois la notion d'une sécrétion interne du pancréas, attira puissamment l'attention sur l'existence dans le sérum de glucides combinés aux protéides qu'il appela « sucre virtuel » du sang.

En 1891, Lépine et Barral, chauffant du sang normal à 58° pendant une demi-heure (pour anéantir le pouvoir glycolytique) obtiennent après chauffage un taux de sucre supérieur à celui que ce même sang contenait auparavant. C'est après cette constatation qu'ils proposent de désigner ce qu'on appelle d'habitude « sucre du sang » par le nom de « sucre immédiat » et de nommer « sucre virtuel » celui qu'on obtient en hydrolysant le caillot avec un acide [9]. Pendant les années qui suivirent, R. Lépine poursuivit ses recherches sur le sucre virtuel et en collaboration avec M. Boulud [10], mit au point la technique qui lui permit de mettre en évidence la plus grande partie possible du sucre virtuel. La dernière technique qu'il ait publiée est la suivante : le sang est traité par une solution de sulfate de soude acidifiée qui précipite les protéines. Le coagulum est séparé par centrifugation, lavé et dilué dans une solution d'acide fluorhydrique. Le tout est alors porté au bain

d'huile à 100° pendant une trentaine d'heures. Le résidu de la capsule est repris par 30 cc. de réactif de Patein, neutralisé par la potasse et filtré. On fait passer un courant d'hydrogène sulfuré dans le liquide limpide. On filtre à nouveau, on acidifie et on concentre. Le sucre virtuel est alors titré dans la liqueur par la méthode de Bertrand.

Pendant les mêmes années, d'autres chercheurs mettent au point des techniques de dosage de ce sucre virtuel. Citons les travaux de Langstein [11], qui hydrolyse la globuline du sang soit par l'acide sulfurique, soit par l'acide bromhydrique et qui dose le pouvoir réducteur de la liqueur finale par la méthode de Pavy ; les travaux de Bierry et Fandart [12], puis de Bierry et Ranc [13], qui hydrolysent les protéines par l'acide sulfurique, puis terminent par un procédé analogue à celui de R. Lépine et Boulud. En 1918, Bierry et Ranc donnent à ce sucre lié aux protides le nom de « sucre protéidique ».

En 1933, Bierry et Mlle Magnan effectuent un microdosage du sucre protéidique en partant de 3 cc. de plasma fluoré. L'hydrolyse se fait par l'acide sulfurique au 1/4 et l'évaluation finale du sucre par un micro-Bertrand.

Les résultats des importants travaux effectués sous la direction du professeur Bierry et les conclusions que l'on peut en tirer ont été publiés par lui et M. Rathery, en un volume intitulé « Introduction à la physiologie des sucres » [14].

B. — Travaux modernes sur sa constitution

Jusque-là, les chimistes n'ont fait que mettre au point des techniques de dosage du sucre virtuel de Lépine sans que la recherche de sa constitution chimique ait abouti à des résultats certains.

En 1928, les travaux de Brocq-Rousseu, Mme Grusewska et Roussel [16] donnaient à penser que ce sucre provenait de l'hydrolyse d'un polysaccharide. Libéré par chauffage à 120° du sérum sanguin en présence d'acides, il est probablement identique à l'isomaltose défini par Fischer. Brocq et ses collaborateurs expliquèrent que l'erreur des auteurs qui l'ont appelé « protéidique » provenait du fait qu'ils ont appliqué au sang ou aux protides une hydrolyse acide qui libère d'emblée un produit réducteur. Si l'on commence par l'hydrolyse alcaline, on obtient une substance non réductrice, « l'isomaltane », qui n'est capable de donner naissance à des sucres réducteurs qu'après une nouvelle hydrolyse en milieu acide. D'autre part, le taux du sucre virtuel est habituellement calculé en glucose, alors que s'il était calculé en isomaltose, deux fois moins réducteur que le maltose, sa quantité serait augmentée, ce qui concorderait avec le taux d'isomaltose trouvé dans le sérum.

Puis les travaux serrent de plus en plus près la question. En 1930, Bigwood et Vuillot [18] précisent que ces corps réducteurs obtenus par hydrolyse des albumines du sérum sont bien réellement les produits

constitutifs des molécules d'albumine et qu'ils ne proviennent pas d'une adsorption plus ou moins prononcée de matériaux étrangers au complexe de la molécule protéique. En effet, ils montrent que les filtrats de déprotéination des solutions d'albumine non précipitée, ou bien la poudre d'albumine mise en suspension dans l'eau pendant quelques heures, *ne présentent pas de pouvoir réducteur*.

En 1929, Bierry [19] isole des protéines plasmatiques un polyholoside composé de glucosamine, mannose et galactose en proportions équimoléculaires. Mais comme d'autres combinaisons de ces mêmes glucides ont été également étudiées par Sörensen [20] à partir des constituants protéiques du plasma, M. H. Dumazert et Penet [21] soumettent les glucides combinés du sang à diverses hydrolyses pour vérifier si le polyholoside isolé par Bierry en est bien le seul constituant.

Ils aboutissent aux conclusions suivantes : les oses libérés au cours de l'hydrolyse du sucre protéidique peuvent être classés en deux catégories :

1° *des glucides fermentescibles* par la levure de bière fixés de façon labile sur les protéines du sang (une hydrolyse par des acides faibles suffit à les en détacher).

2° *des oses non fermentescibles* (entre autres la glucosamine) très solidement fixés.

La nature de ces oses est précisée par Bierry, qui prouve que, en opérant sur des complexes obtenus par hydrolyse alcaline ou digestion trypsique, ou bien

sur les protéines eux-mêmes, l'amino-hexose du sucre protéidique se trouve sous forme acétylée. Des conclusions auxquelles aboutissent les recherches de Bierry, il ressort que la composition du sucre protéidique est la suivante : « *galacto-acetyl-glucosamino-mannose* » [22].

D'autre part, la labilité et la fermentescibilité de certains des glucides composant le sucre protéidique conduisent à envisager l'hypothèse selon laquelle ceux-ci seraient plus particulièrement susceptibles de jouer un rôle dans le métabolisme des glucides.

M. Dumazert [23] et [24] a montré en effet que la glycolyse du sucre libre, complète au bout de 6 à 8 heures, est simultanée à la disparition de la fraction glucidique du sucre protéidique libérable par acétolyse et constitué par des oses fermentescibles.

Récemment, Bierry, Gouzon et Magnan [26] ont montré que dans l'ensemble des glucides considéré comme « sucre protéidique » du sang une partie est plus facilement hydrolysable par exemple par l'acide chlorhydrique N/20, lequel commence à rompre la liaison unissant la N-acétyl glucosamine au reste du polyoside.

Dumazert et Penet [27] ont confirmé ces résultats en employant l'acide acétique N/5 comme agent d'hydrolyse et ils ont montré que la fraction glucidique libérée par acétolyse n'est pas seulement caractérisée par la labilité de la liaison qui l'unit au reste du polyoside, mais qu'elle est constituée entièrement par des oses fermentescibles et ils prévoient, en raison

de certaines expériences en cours, qu'il doit exister dans le sang des enzymes capables de libérer cette fraction fermentescible, laquelle pourrait alors jouer un rôle important dans le métabolisme des glucides, conclusion dont ils ont apporté des preuves dans une plus récente communication [28].

CHAPITRE III

TECHNIQUE DE LA DETERMINATION PHOTOMETRIQUE

La détermination photométrique du sucre virtuel sanguin se fait en trois temps :

- 1° Préparation des albumines ;
- 2° Réaction de floculation ;
- 3° Lecture photométrique.

I. — Préparation des albumines

Elle se fait par le procédé mis au point par Piettre [29] et [30] dont le principe est le suivant :

On précipite 1 cc. de sérum par 5 cc. d'acétone froide et on sépare le précipité par centrifugation. Les lavages se font successivement à l'acétone, l'acétone-éther, et deux fois à l'éther anhydre. On sèche à 36° et on pèse.

PRÉPARATION DE L'EXPÉRIENCE. — Les prises de sang sont faites le matin à jeun. Le sang recueilli est aussitôt transporté dans une glacière où il séjourne de

5 à 7 heures, de façon que la coagulation se fasse normalement. Puis le sérum est séparé du caillot par centrifugation.

RÉACTIFS :

1. Acétone pour analyse de Prolabo ;
2. Ether anhydre pur à 66° de Prolabo ;
3. Mélange à parties égales des deux réactifs précédents.

Ces liquides sont refroidis avant l'usage dans de la glace pilée jusqu'à ce que leur température soit voisine de +1°.

De même le tube dans lequel s'opère la précipitation des albumines est refroidi de la même façon avant l'usage, puis entre chaque centrifugation.

PRÉCIPITATION DU SÉRUM. — Le sérum est décanté, centrifugé, décanté à nouveau. 1 cc. de ce sérum, non chauffé, mesuré à la température du laboratoire, est introduit dans un tube à centrifuger de 70×19 mm. préalablement taré (pesée à 1/2 mmg. près) et mis à refroidir dans la glace pilée. Quelques minutes suffisent pour faire descendre la température jusqu'à +0°5.

Faire couler 5 cc. d'acétone froide dans le tube en agitant vivement et continuellement. Centrifuger immédiatement pendant une minute à 3.000 tours.

LAVAGE DES ALBUMINES. — Décanté le liquide acétonique. Introduire une petite quantité d'acétone neuve froide (0 cc. 5 environ). Délayer le culot d'al-

bumine avec une spatule de verre, le tube plongeant dans la glace pilée.

Ajouter encore un peu d'acétone, délayer à nouveau, puis ajouter environ 4 cc. d'acétone en agitant continuellement avec la spatule. Centrifuger une minute à 3.000 tours. Décanner l'acétone. Introduire une petite quantité du mélange acétone-éther froid, délayer avec la spatule, le tube plongeant dans la glace pilée, ajouter à nouveau 0 cc. 5 d'acétone-éther, délayer, ajouter enfin en agitant 4 cc. environ d'acétone-éther, décanner.

Faire de même deux lavages successifs à l'éther anhydre.

Le culot d'albumine doit être blanc (sauf pour les sérums ictériques ou très hémolysés). Le tube avec le culot d'albumine est mis à l'étuve à 36° jusqu'au lendemain (15-20 heures).

Le tube et son contenu sont alors pesés à nouveau, ce qui donne par différence le poids de la pastille d'albumine correspondant à 1 cc. de sérum.

II. — Réaction de floculation par l'acétate de cuivre

Pulvériser la pastille avec un petit agitateur dans le tube même où elle a été préparée. Ajouter 1 cc. d'eau salée à 3 p. 1.000. Brasser pendant quelques minutes, attendre et si, après 15 minutes, la dissolution n'est pas complète, brasser à nouveau.

Une heure après la première addition d'eau salée,

ajouter une nouvelle quantité d'eau salée à 3 p. 1.000 telle que le taux d'albumine soit le $\frac{1}{6}$ du taux moyen du sérum, soit 80/6 gr. par litre. Pour obtenir ce résultat :

— pour un poids de pastille de 80 mmg. ajouter 5 cc. d'eau salée ;

— pour un poids n (en mmg.) ajouter $n \times 0,0625$ (en centimètres cubes) que l'on mesure avec une burette de précision.

Centrifuger, décanner et distribuer 0.5 cc. du liquide dans un tube 13×60 et ajouter 2 fois 0.5 cc. d'une solution dans l'eau distillée d'acétate de cuivre à 1 gr. 50 pour 100 cc. de solution.

Agiter le tube, boucher, laisser deux heures à $+20^\circ$ centigrades et, après agitation par renversement du tube, faire la lecture au photomètre.

III. — Mesure photométrique

a) DESCRIPTION DU PHOTOMÈTRE. — Le photomètre utilise le principe des flux dirigés (*).

Une lampe électrique donne naissance à un faisceau lumineux qui, dès son entrée dans l'appareil, est divisé en deux faisceaux parallèles par un objectif collimateur. Un des faisceaux, le faisceau A, traverse la substance en examen placée dans une cuve parallélépipédique en verre dont la section intérieure est calibrée à 10×10 mm. L'autre faisceau, le faisceau B, traverse le compensateur en verre neutre décrit ci-

(*) Ce principe a été appliqué, en particulier, par Gouy (1880), par Lord Raleigh (1892) et par Fabry et Buisson dans leur micro-photomètre (1913).

après qui est l'organe de mesure. Puis les deux faisceaux traversent un « cube photométrique » constitué par deux prismes diagonaux adhérents optiquement, dont l'un porte une bande centrale légèrement en creux. Il est construit de telle façon que la bande centrale, qui donnera naissance dans le viseur des plages à la plage centrale, est éclairée exclusivement par le faisceau B, tandis que les bandes encadrantes, qui donneront naissance aux plages encadrantes, sont éclairées par le faisceau A.

Pour arriver à égaliser l'éclairement des plages, l'opérateur dispose de deux moyens :

1° La manœuvre du compensateur en verre neutre. Il se compose d'un coin A mobile au moyen d'un bouton molleté placé sous l'appareil, et d'un contre-coin B fixe de même angle et disposé en sens inverse. L'ensemble se comporte comme une lame de verre neutre à faces constamment parallèles, mais d'épaisseur variable. A chaque position du coin A correspond une épaisseur bien déterminée de cette lame fictive, donc une absorption également bien déterminée dont la valeur se lit sur une échelle solidaire du coin A et défilant devant un index fixe.

2° Un moyen discontinu qui est l'introduction des surcharges en verre neutre que l'on peut, à volonté, placer et enlever sur le trajet des faisceaux, et dont la valeur est donnée pour chaque appareil. On ne surcharge les faisceaux que si la seule manœuvre du coin n'arrive pas à assombrir suffisamment la plage ou les plages qui apparaissent plus claires.

L'absorption de la lumière par une substance donnée variant avec la couleur, il faut donc fixer celle-ci. Avec le photomètre V.B.Y., on peut se contenter d'une lumière approximativement monochromatique, celle qui est donnée par la lampe à filament de tungstène, filtrée par un écran coloré convenable, généralement choisi dans la gamme des écrans Wratten. Dans le modèle de photomètre que nous avons eu à notre disposition, les écrans sont portés par une roue et on change d'écran par simple rotation de la roue.

Dans la détermination photométrique du sucre protéidique, l'écran employé est l'écran vert ϵ de Wratten.

La mesure x résulte de la formule :

$$x = (e + B - A) \times \sigma$$

e étant la lecture faite sur l'échelle divisée ;

A étant la valeur de la surcharge placée sur le trajet lumineux du faisceau A , c'est-à-dire celui qui a traversé la substance ;

B étant la valeur de la surcharge placée sur le trajet lumineux du faisceau B , c'est-à-dire celui qui a traversé le compensateur.

Quand aucune surcharge n'est placée sur le parcours d'un faisceau, la valeur de cette surcharge égale zéro.

σ étant le coefficient de passage de l'écran α à l'écran utilisé, l'écran α étant l'écran étalon de l'appareil.

Cette valeur est donnée avec chaque appareil.

Cette valeur x ainsi déterminée est la densité optique, grandeur absolue, indépendante de l'appareil employé.

CHAPITRE IV

TRAVAUX PERSONNELS

Les résultats de nos travaux, effectués sous la direction de nos maîtres, MM. les Professeurs Morel, Arloing et Josserand, ont été publiés en collaboration avec eux à la Société de Biologie de Lyon [36].

A. — Conditions d'expérimentation

Nous avons à notre disposition deux photomètres : le premier (*) est le photomètre classique Vernes, Bricq et Yvon, dit « modèle à roue ». C'est celui dont nous avons décrit brièvement le mécanisme. L'autre est le photomètre Vernes, Bricq et Yvon, dit « modèle réduit ». La différence avec le précédent réside dans le fait qu'il n'existe pas de surcharges à placer sur le parcours des faisceaux lumineux. Il en résulte une réduction considérable du champ des déterminations possibles.

C'est ainsi que la mesure de l'intensité du trouble dans la réaction de floculation par l'acétate de cuivre

(*) Cet appareil, appartenant à la Clinique Neurologique de M. le Doyen Lépine, avait été obligeamment prêté à M. le Professeur Morel pour ses recherches sur le cancer.

qui est étudiée ici, est très souvent impossible par suite de l'obscurcissement trop important des plages lorsque ce trouble se traduit par un degré photométrique supérieur à 200°.

Or, comme dans ce cas, ce n'est pas une intensité de coloration qui est mesurée, mais l'intensité d'une floculation provoquée dans des conditions très strictement déterminées, on ne peut avoir recours à la dilution de la substance à examiner, car les mesures obtenues ne seraient pas correctes. En particulier il n'y aurait aucune possibilité de comparaison avec les chiffres donnés par d'autres opérateurs utilisant des photomètres différents.

Nous avons donc dû abandonner l'usage simultané des deux appareils puisque, dans ce cas particulier, le photomètre « modèle réduit » ne pouvait donner des résultats satisfaisants.

Tous les chiffres cités ont donc été obtenus avec le photomètre classique de Vernes et, dans le cas où il était nécessaire d'intercaler une surcharge sur le trajet du faisceau lumineux, nous avons, par le calcul, ramené la mesure à une lecture « sans surcharge » pour que tous les chiffres soient comparables entre eux.

B. — Examen des sérums de sujets non cancéreux

Nous avons commencé par examiner le taux de sucre protéidique contenu dans des sérums de sujets sains. Le degré photométrique correspondant est,

dans ce cas, *toujours inférieur à 100°*. L'examen a porté sur une quinzaine de sérums fournis par les soins de MM. les Professeurs Lépine, Sédailan, Josserand.

Puis, l'examen a porté sur des sujets non cancéreux, mais atteints d'affections diverses. Certains de ces sérums présentaient une lecture photométrique supérieure à 100. Ces cas ont été signalés par A. Vernes [31], qui indique que la réaction de floculation à l'acétate de cuivre est faussée chez les femmes arrivées au septième mois de la grossesse, certains hépatiques, certains hyperglycémiques, certains intoxiqués (alcool ou maladies infectieuses).

De ce fait, la réaction de floculation ne peut avoir une valeur diagnostique absolue.

Si l'on veut faire entrer en ligne de compte, dans l'établissement du diagnostic, la détermination photométrique du sucre protéidique, il est nécessaire d'effectuer en même temps le contrôle du taux normal, chez le malade en question, du glucose, du cholestérol, de l'urée. L'emploi de la pastille d'albumine purifiée à la place du sérum élimine, il est vrai, une grande partie de ces causes d'erreur. La réaction est cependant sans valeur pour les sujets dont la glycémie dépasse 1 gr. 10.

Nous avons déterminé le taux de la glycémie des malades en examen par la méthode manganométrique décrite par MM. Fontès et Thivolle [37].

C. — Examen des sérums de sujets cancéreux

Nous avons ensuite effectué la réaction à l'acétate de cuivre sur les malades, cancéreux avérés, dont le sang nous a été remis par M. le Professeur Agrégé Josserand.

La première prise de sang est faite au malade à son arrivée à l'hôpital avant tout traitement. Les suivantes sont faites de huit jours en huit jours pendant toute la durée du séjour du malade à l'hôpital.

Nous avons effectué plus de 100 déterminations photométriques représentant une trentaine de malades. Nous ne pouvons reproduire ici tous les cas examinés. Nous nous contenterons d'en donner quelques-uns, à titre d'exemple, et de tirer les conclusions générales que l'on peut déduire de ces observations.

1) *Tous les sujets cancéreux examinés, sans aucune exception, ont présenté une lecture photométrique supérieure à 100°, c'est-à-dire supérieure au chiffre le plus haut observé chez les sujets sains. Les chiffres obtenus sont ordinairement compris entre 150° et 300°.*

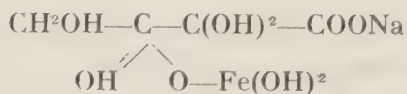
2) *Des chiffres très élevés indiquent presque toujours un état pathologique très grave et un pronostic fâcheux. Dans ces cas, la thérapeutique ne fait varier les chiffres que dans des limites très faibles. Le plus souvent de tels malades sont décédés très rapidement, dans la quinzaine ayant suivi le dosage.*

- M. H., Pav. B, Grange-Blanche, 2 décembre 1940 **317**
Biopsie. Hémorragie mortelle 8 jours après
cette lecture.
- M. T., Pav B, Grange-Blanche, 18 février 1941 . **306**
Décédé 10 jours après le dosage.
- M. L., Pav. B, Grange-Blanche, 14 février 1941 . **316**
Décédé.
- M. R., Sainte-Blandine, 21 mai 1941 **286**
Décédé.

3) Dans la presque totalité des cas, *aux variations du taux de sucre protéidique correspondent des variations parallèles dans l'état de santé du malade.* « Le sang d'un cancéreux qui va bien se reconnaît par le retour du sucre protéidique vers la normale », dit Vernes [32]. En effet, nous avons constaté, d'une manière absolument régulière, que lorsque le cancer est traité avec succès, le taux de sucre protéidique baisse d'une manière sensible et tend à se rapprocher du taux normal. Il faut, d'ailleurs, noter que nous n'avons jamais eu l'occasion d'observer le retour à un taux absolument normal. Il est vrai, également, que le séjour des malades dans les hôpitaux est toujours le plus bref possible et que, dès qu'un malade se sent vraiment mieux, il quitte l'hôpital et nous n'avons plus la possibilité de faire de nouvelles mesures.

Certains cas observés ont montré qu'une interruption du traitement se traduisait par un palier dans la courbe photométrique et même par une nouvelle ascension si l'interruption se prolongeait. A une re-

Mais ils nous ont également chargée de rechercher l'effet vis-à-vis du taux du sucre protéidique sanguin des injections d'un autre sel complexe soluble, qu'ils ont, afin d'étudier le rôle dans ces propriétés de la structure stéréochimique, découvert et préparé [34] à partir d'un autre acide bicétonique : l'acide déhydro-dioxytétronique à anneau lactonique ouvert : sel complexe qu'ils appellent : *ferri-dioxy-tétrone sodique* :



Voici quelques-uns de nos résultats :

— M. P... — Grange-Blanche, Pav. B. — Néo-carcinome généralisé.

Traité par la ferriscorbone sodique [33].

18 janvier	316	avant traitement.
29 janvier	306	en cours d'injections intraveineuses.
10 février.	281	» »
22 février.	270	» »
5 mars . .	240	» »
11 mars . .	313	après quatre jours d'interruption de traitement.
19 mars . .	278	reprise du traitement.

— Mme P... — Grange-Blanche, Pav. D. — Cancer du sein.

Traitée par la ferriscorbone sodique.

20 février.	262	avant traitement.
5 mars . .	231	en cours d'injections intraveineuses.
19 mars . .	210	» »
27 mars . .	170	» »

— Mlle F... — Grange-Blanche, Pav. B. — Tumeur
du plancher de la bouche.

Traitée par la ferriscorbone sodique.

29 décemb. **285** avant traitement.

6 janvier **253** en cours d'injections intraveineuses.

18 janvier **200** » »

6 février. **145** » »

— M. T... — Grange-Blanche, Pav. B. — Cancer de
la langue.

Traité par la ferri-dioxy-tétrone sodique [34].

4 mai . . . **286** avant traitement.

20 mai . . . **250** en cours d'injections intraveineuses.

27 mai . . . **190** » »

— M. G... — Saint-Irénée. — Tumeur de la gouttière
pharyngée avec adénopathie cervicale.

Traitée par la ferri-dioxy-tétrone sodique.

13 mai . . . **245** avant traitement.

21 mai . . . **206** en cours d'injections intraveineuses.

27 mai . . . **180** » »

4) La détermination du sucre protéidique a donné
parfois pour des malades qu'un premier examen,
assez superficiel, avait fait considérer comme cancé-
reux, des *chiffres normaux*. Or, dans les trois cas de
ce genre qui se sont présentés, un examen plus ap-
profondi des malades a permis d'affirmer que leur
affection *n'était pas d'origine néoplasique*.

— M. V... — Saint-Irénée. — Ulcère de l'estomac **102**

— M. R... — Saint-Irénée. — Sténose œsopha-
gienne (gastrostomie d'urgence) **67**

— M. T... — Antiquaille. — Ulcère gastrique .. 85

5) Enfin, nous avons observé, dans tous les cas de sujets cancéreux mais dont le *sérum était hémolytique, des lectures photométriques relativement basses* pour des cancéreux, c'est-à-dire qui se rapprochent des chiffres normaux.

Ces chiffres ont été observés sur des malades parvenus à un stade très avancé de la maladie et atteints d'une anémie très prononcée.

— M. D... — Saint-Irénée. — Anémie très intense (cancer gastrique) 128

— Mme H... — Sainte-Blandine. — 2.000.000 de globules rouges (cancer gastrique avec œdème) 130

— M. G... — Grange-Blanche, Pav. B. 125

— M. B. L... — Antiquaille (cancer n'évoluant que très lentement) 143

Résumé des résultats

1) Chez un sujet non cancéreux, la détermination photométrique du sucre protéidique par la réaction de floculation du sérum par l'acétate de cuivre donne des chiffres qui ne dépassent que très rarement la cote 100 du photomètre.

2) Chez un sujet cancéreux, ce chiffre est toujours supérieur à 100.

3) Il existe un parallélisme entre les variations du taux de sucre protéidique et l'état de santé du malade. Lorsque le cancer est traité avec succès, le taux de sucre protéidique baisse et tend à revenir normal ; si, au contraire, après l'action d'un traitement, le cancer reprend le dessus, le tracé donné par la réaction à l'acétate de cuivre remonte.

4) Des lectures photométriques très élevées (voisines de 300) correspondent habituellement à des cas très graves sur lesquelles la thérapeutique est impuissante et qui sont proches d'une issue fatale.

5) Des cancers incurables, mais auxquels l'organisme, bien que très faible, semble s'être, dans une certaine mesure, habitué, se traduisent par des chiffres relativement bas.

CONCLUSIONS

I. — Nos recherches effectuées sur une trentaine de malades cancéreux et non cancéreux des hôpitaux de Lyon confirment les chiffres obtenus et publiés par A. Vernes et ses collaborateurs (*Archives de l'Institut Prophylactique*, 1929 à 1938), concernant l'élévation de la teneur en sucre virtuel ou protéidique du sang, déterminée par la méthode de cet auteur, c'est-à-dire par photométrie de la réaction produite par l'acétate de cuivre sur une pastille de protéides purifiées provenant du sérum, chez les cancéreux.

II. — Elles montrent l'influence sur ces glucides d'une médication biochimique consistant en injections intraveineuses d'un sel complexe ferrico-sodique préparé à partir de l'acide déhydro-ascorbique à anneau lactonique ouvert par hydrolyse, dont les effets favorables sur d'autres éléments des processus néoplasiques ont déjà été décrits par MM. les Professeurs Bérard, Morel, Arloing et Jossrand [35].

Ces effets consistent en désinfiltration, diminution importante de volume et désinfection des tumeurs, diminution manifeste des douleurs, relèvement de l'état général, toutes actions qui n'apparaissent encore que comme étant partielles et dont les consé-

quences utiles se manifestent surtout par une réduction de l'infection et de la phlogose péritumorales. Mais le parallélisme entre cette influence, elle aussi partielle, sur le sucre protéidique et ces effets thérapeutiques paraît intéressant à signaler, parce qu'il apporte un élément de plus en faveur de la possibilité d'aborder l'étude des problèmes biochimiques du cancer.

Vu :

Le Doyen,
JEAN LEPINE.

Vu :

Le Président de la Thèse,
A. MOREL.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 4 Novembre 1941.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
GAU.

BIBLIOGRAPHIE

1. A. VERNES. — *Archives de l'Institut Prophylactique*, tome 1, page 42.
2. A. VERNES. — *Archives de l'Institut Prophylactique*, tome 3, page 395.
3. M. PIETTRE. — *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 1926, 3, 97.
4. PIETTRE. — Biochimie des protéines.
5. A. VERNES. — *Archives de l'Institut Prophylactique*, 1937, 9, 262.
6. A. VERNES. — *Archives de l'Institut Prophylactique*, 1938, 10, 35.
7. LEHMANN. — *Gazette hebdomadaire de Médecine et de Chirurgie*, 1855, p. 763.
8. FIGUIER. — *Gazette hebdomadaire de Médecine et de Chirurgie*, 1855, p. 634.
9. LÉPINE et BARRAL. — *C. R. Académie des Sciences*, 22 juin 1891.
10. LÉPINE et BOULUD. — *C. R. Académie des Sciences*, 133, p. 138 ; 136, p. 1037 ; 138, p. 610 ; 142, p. 197 ; 143, p. 500 et 539.
11. LANGSTEIN. — *Monatshefte für Chemie*, 25, p. 453 ; *Biochemische Zeitschrift*, 127, p. 34.
12. BIERRY et FANDARD. — *C. R. Soc. Biol.*, 72, p. 928 ; 73, pp. 96 et 454.
13. BIERRY et RANC. — *C. R. Acad. des Sciences*, 158, p. 278.

14. BIERRY et RATHERY. — Introduction à la physiologie des sucres. Librairie Baillière, 1935.
15. BIERRY et Mlle MAGNAN. — *C. R. Soc. Biol.*, 1933, 114, p. 257.
16. BIERRY et VOSKRESSENSKY. — *C. R. Soc. Biol.*, 1928, 98, p. 745.
17. BROCC-ROUSSEU-GRUSEWSKA. — *Annales de Physiol. et Physicochimie biol.*, n° 4, 1928, 728.
18. BIGWOOD et VUILLOT. — *C. R. Soc. Biol.*, 1927, 97, 187.
19. BIERRY et RATHERY. — *American Journal of Physiology*, 1913, 31, 376 ; 1929, 89, 650.
20. SÖRENSEN. — *C. R. Labo. Carsberg*, 1928, 22, 487.
21. DUMAZERT et PENET. — *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 130, 558.
22. BIERRY. — *Travaux des membres de la Société de Chimie biologique*, tome 23, 1174.
23. G. PENET. — Contribution à l'étude des glucides du plasma sanguin. *Thèse doct. Univ. Pharmacie Marseille*.
24. DUMAZERT et PENET. — *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 130, 558.
25. HEWITT. — *Biochem. Journ.*, 1938, 32, 1554.
26. BIERRY, GOUZON et MAGNAN. — *C. R. Soc. Biol.*, 1939, 130, 411, et *C. R. Acad. Sciences*, 1940, p. 120.
27. DUMAZERT et PENET. — *Travaux des Membres de la Société de Chimie biologique*, janvier-mars 1941, p. 1042.
28. DUMAZERT et MEMMI. — *C. R. Soc. Biol.*, 1941, 135, 1228.
29. PIETTRE et VILA. — *C. R.*, 1920, 170, 1466 ; *C. R.* 1920, 171, 372.
30. PIETTRE. — *Journ. Pharm. Chim.*, 1926, 3, 97.
31. *Archives de l'Institut Prophylactique*, 1934, 6, 121.
32. *Archives de l'Institut Prophylactique*, 1937, 9, p. 262.

33. A. MOREL, F. ARLOING, A. JOSSERAND. — *Journal de Médecine de Lyon*, 5 janvier 1941.
34. A. MOREL, F. ARLOING, A. JOSSERAND et L. PERROT. — *C. R. Soc. Biol. Lyon*, séance de juin 1941.
35. L. BÉRARD, A. MOREL, F. ARLOING, A. JOSSERAND et L. PERROT. — *Bull. Acad. Médecine*, Communication du 28 mars 1939.
36. A. MOREL, F. ARLOING, A. JOSSERAND et Madeleine VANSTEENBERGHE. — *C. R. Soc. Biol. Lyon*, séance d'octobre 1941.
37. G. FONTÈS et L. THIVOLLE. — *Bull. Soc. Chimie Biologique*. 1921, 3, 226.

IMPRIMERIE
BOSC FRÈRES, M. & L. RIOU
42, QUAI GAILLETON, 42
LYON

